

Host factors influence Barrett's carcinogenesis: findings from a mouse gastroduodenal reflux model.

著者	金井 俊平
発行年	2019-09-11
その他の言語のタイトル	Barrett 腺癌の発生には宿主因子も影響するマウス胃・十二指腸液逆流モデルからの知見
学位授与機関	滋賀医科大学
学位授与年度	令和元年度
学位授与番号	14202甲第849号
URL	http://hdl.handle.net/10422/00012664

doi: 10.1007/s10388-019-00660-5(<https://doi.org/10.1007/s10388-019-00660-5>)

氏 名 金井 俊平

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲第 849 号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項

学 位 授 与 年 月 日 令和元年 9 月 1 1 日

学 位 論 文 題 目 Host factors influence Barrett's carcinogenesis:
findings from a mouse gastroduodenal reflux model

(Barrett 腺癌の発生には宿主因子も影響する一マウス胃・十二指腸液逆流モデルからの知見)

審 査 委 員 主査 教授 宇田川 潤

副査 教授 伊藤 俊之

副査 教授 丸尾 良浩

論 文 内 容 要 旨

※整理番号	856	(ふりがな) 氏 名	金井 俊平
学位論文題目	Host factors influence Barrett' s carcinogenesis: Findings from a mouse gastroduodenal reflux model (Barrett 腺癌の発生には宿主因子も影響する一マウス胃・十二指腸液逆流モデルからの知見)		
<p>(研究の目的)</p> <p>Barrett 上皮は食道重層扁平上皮の粘膜障害を修復するように発生する円柱上皮化生であり、腺癌の前癌病変として報告されているがその発生についてはいまだ不明な点が多い。我々はラットを用いて外科的処置により胃・十二指腸液を食道へと逆流させることで Barrett 食道から食道腺癌を発生させることに成功してきた。しかし、遺伝子を扱う研究を行うためにはラットよりも遺伝子背景が明らかになっているマウスの方が有用である。よって、本研究ではマウスで胃・十二指腸液逆流モデル (逆流モデル) を作製し、これまでのラット逆流モデルを用いて得られた結果と比較検討することでバレット上皮の発生過程を明らかにすることを目的とした。</p> <p>(方法)</p> <p>8 週齢の雄性 C57BL/6 J マウスを使用して十二指腸液逆流モデルおよび Sham 手術群を作成した。食道胃接合部を切離後、食道と上部空腸を端一側吻合した。普通食投与と高脂肪食投与の 2 群に分け 60 週間飼育後に屠殺し、胆汁採取と吻合部を含む上部空腸と食道を摘出した。摘出した標本に HE 染色および免疫染色 (抗体は CK7、CDX2、PDX1 を使用) を行い、食道一空腸吻合部を中心に組織学的検討を行った。</p> <p>採取した胆汁については胆汁酸分画の解析を行った。また、Barrett 上皮や Barrett 腺癌の発生における胆汁酸の影響を検討するため、細胞の増殖活性をみる <i>in vitro</i> の研究を追加した。食道胃接合部癌 (OE19) に対して、TCA (taurocholic acid) を曝露させ、細胞増殖活性を測定した。</p> <p>ラット逆流モデルにおける発癌に関与する遺伝子を同定するために、Barrett 腺癌細胞株ではないが、ラット逆流モデルに発生した食道扁平上皮癌の胸腔内播種巣より樹立した細胞株 ESCC-DR の網羅的遺伝子解析を行った。また、TCA 投与による腫瘍進展に関して付加される遺伝子異常を検出するために ESCC-DR をコントロールとして、ESCC-DR に TCA を慢性曝露した細胞株 ESCC-DRtca をテストサンプルとして、Comparative genomic hybridization (CGH) Microarray を用いて網羅的遺伝子解析を行った。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2 千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

（結果）

・マウス逆流モデルではすべての個体で吻合部近傍に Barrett 上皮の発生が確認できた。免疫染色では吻合部近傍の Barrett 上皮は CDX2、CK7、PDX1 のいずれも陽性であった。少数ではあるが吻合部から離れた食道重層扁平上皮基底層にも CK7 陽性細胞が確認できた。

・胆汁酸分析ではマウス胆汁酸の大部分はタウリン抱合胆汁酸であり、高脂肪食摂取群で T- α -MCA (P value=0.046)のみが有意に上昇していただけであった。

・胆汁酸暴露による細胞増殖への影響に関して、TCA 曝露にて用量依存性に細胞増殖活性が増加した。

・array CGH 解析の結果、ESCC-DR には非常に多くの染色体異常や UGT2B などの遺伝子異常が検出された。また、ESCC-DR と ESCC-DRtca を比較した結果、TCA 投与により多数の染色体異常が付加されていることが確認できた。

（考察）

Barrett 上皮の発生経路について、マウス逆流モデルでは Barrett 上皮は吻合部近傍に限局し、ラット逆流モデルのような吻合部から離れた口側食道に広範囲に存在する円柱上皮化生は確認できなかった。しかし、少数ではあるものの、吻合部から離れた食道重層扁平上皮基底層に CK7 陽性細胞が確認できたことから、食道重層扁平上皮の基底層から直接円柱上皮に化生する可能性が示唆された。

今回、マウス逆流モデルでは腺癌の発生を認めなかった理由の一つとして、解剖学的な違いが挙げられる。胆嚢を持たないラットでは持続的に食道へ十二指腸液と胆汁の逆流が起こるが、胆嚢を有するマウスでは、外科的に上部空腸を食道に吻合しても、食道への持続的な胆汁逆流が起こらないと考えられる。実際、ヒト症例では、胆嚢摘出後には食道腺癌の罹患率が上昇することが報告されており、今回のマウスの実験結果からも胆嚢の存在は食道腺癌発生に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

他に、胆汁酸の組成や胆汁酸が食道組織に及ぼす影響が宿主間で異なっている可能性が挙げられる。ヒト胆汁酸は、通常グリシン抱合胆汁酸の割合が高いが、Barrett 上皮、食道炎の発生を認める症例ではタウリン抱合胆汁酸が食道内に有意に増加していることが報告されている。我々もラットで高脂肪食を摂取させるとタウリン抱合胆汁酸が有意に増加し、Barrett 上皮の形成や異型上皮の発生率に影響を与えることを確認している。本研究で TCA が細胞増殖活性を有意に増加させたことから、ヒトやラットではタウリン抱合胆汁酸の曝露が Barrett 上皮の形成や食道腺癌の発生に強い影響を与えると考えられる。一方、マウスではもともと胆汁酸の大部分がタウリン抱合胆汁酸であり、高脂肪食摂取後も胆汁酸分画の変化が軽微であったため、食道炎の症状が軽度で腺癌の発生も認めなかったと思われる。また、ラット逆流モデルで樹立した ESCC-DR では UGT2B の増幅を認めたが、UGT は発癌物質やビリルビンなどの代謝に重要な役割を果たしており、この UGT2B の宿主間における遺伝子発現の違いも食道腺癌の発生・進展に影響を及ぼす可能性があると思われる。

（結語）

食道腺癌の発生率が宿主間で異なるのは、胆汁酸逆流をはじめとする発癌因子の曝露による影響だけではなく、解剖学的な違いや UGT2B などの遺伝子多型など宿主側の要因も大きく影響していると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	8 5 6	氏 名	金井 俊平
論文審査委員			
<p>（学位論文審査の結果の要旨）※明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと</p> <p>本論文では、食道空腸吻合術によるマウス十二指腸液逆流モデルを使用し、食道腺癌の前癌病変とされる Barret 上皮の発生過程について検討した。さらに、ヒト食道胃接合部癌細胞株 OE-19 やラット食道扁平上皮癌細胞株 ESCC-DR を用い、胆汁酸と発がんとの関連について、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1) 術後 60 週の逆流モデルでは、高および低脂肪食摂取群の全例において Barret 上皮が吻合部近傍に発生していた。また、吻合部から離れた食道重層扁平上皮基底層にも CK7 陽性細胞が認められた。しかしながら、ラット逆流モデルと異なり腺癌の発生を認めなかった。2) 本モデルの胆汁酸分析により高脂肪食摂取群で T-α-MCA が増加していた。一方、ラットと異なり、TCA は両群間で差がなく、かつ高値を示した。3) TCA により OE-19 細胞の細胞増殖活性化が認められた。4) ESCC-DR では UGT2B 遺伝子の発現が上昇していた。また、TCA 刺激により多数の染色体異常が付加された。 <p>以上の結果から、十二指腸液逆流はマウスにおいても Barret 上皮発生に関与しているが、腺癌の発生には宿主因子も大きく影響することが示唆された。</p> <p>本論文は、胆汁酸逆流と食道癌発生との関連について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士（医学）の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">（総字数 599 字）</p>			